

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-528109

(P2004-528109A)

(43) 公表日 平成16年9月16日(2004.9.16)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 F 2/08

A 6 1 F 2/08

4 C 0 8 1

A 6 1 F 2/10

A 6 1 F 2/10

4 C 0 9 7

A 6 1 L 27/00

A 6 1 L 27/00

U

4 C 1 6 7

A 6 1 M 29/00

A 6 1 M 29/00

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 46 頁)

(21) 出願番号 特願2002-584990 (P2002-584990)  
 (86) (22) 出願日 平成14年4月25日 (2002.4.25)  
 (85) 翻訳文提出日 平成15年10月24日 (2003.10.24)  
 (86) 国際出願番号 PCT/FI2002/000345  
 (87) 国際公開番号 W02002/087648  
 (87) 国際公開日 平成14年11月7日 (2002.11.7)  
 (31) 優先権主張番号 60/286,587  
 (32) 優先日 平成13年4月27日 (2001.4.27)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 503115906  
 ビボキシド オサケユイチア  
 フィンランド国, エフイーエン-2052  
 O トゥルク, ティキステーカトゥ 4  
 アー  
 (74) 代理人 100065226  
 弁理士 朝日奈 宗太  
 (74) 代理人 100098257  
 弁理士 佐木 啓二  
 (74) 代理人 100117112  
 弁理士 秋山 文男  
 (74) 代理人 100117123  
 弁理士 田中 弘

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 軟組織付着の改善方法、および移植片作製のための該方法の使用

## (57) 【要約】

本発明は、軟組織付着の改善方法であって、表面軟組織が付着される材料の表面を、 $TiO_2$ および/または $SiO_2$ を豊富に含有する被覆物でコーティングする工程、および軟組織付着が望まれるところに該被覆物を適用する工程からなる方法に関する。本発明はさらに、軟組織に付着される予定である移植片の表面が、 $TiO_2$ および/または $SiO_2$ を豊富に含有する多孔性の被覆物でコートされた該移植片に関する。本発明はまた、該被覆物への軟組織付着のための移植片を製造するための、 $TiO_2$ 、 $SiO_2$ 、または $TiO_2$ および $SiO_2$ を豊富に含有する多孔性表面被覆物の使用に関する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

軟組織付着の改善方法であって、  
表面軟組織が付着される材料の表面を、 $TiO_2$ および／または $SiO_2$ を豊富に含有する被覆物でコーティングする工程、および  
軟組織付着が望まれるところに該被覆物を適用する工程  
からなる方法。

## 【請求項2】

前記被覆物が、多孔性であることを特徴とする請求項1記載の方法。

## 【請求項3】

前記被覆物が、50nm未満の直径および／または深さを有する細孔からなることを特徴とする請求項2記載の方法。

## 【請求項4】

前記被覆物の必須部分の細孔が、2～50nmの直径および少なくとも1nmの深さを有する細孔からなることを特徴とする請求項3記載の方法。

## 【請求項5】

被覆される前記材料が、チタニウム、ニチノール、セラミックおよびポリマー材料、ならびにそれらの組合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項1、2、3または4記載の方法。

## 【請求項6】

前記被覆物が、軟組織のインビトロ付着に適用されることを特徴とする請求項1、2、3、4または5記載の方法。

## 【請求項7】

前記被覆物が、軟組織のインビボ付着に適用されることを特徴とする請求項1、2、3、4または5記載の方法。

## 【請求項8】

a)  $TiO_2$ 、 $SiO_2$ または $TiO_2-SiO_2$ ゾルを調製する工程；  
b) 該ゾルを熟成させる工程；  
c) 軟組織が付着される表面に、工程a)において調製され、ついで工程b)において熟成された該ゾルを接触させる工程であって、該接触が該表面を該ゾルに浸漬することによって任意に行なわれる工程；  
d) 工程c)の接触が該表面を該ゾルに浸漬することによって行なわれる場合、被覆表面を得るために、所定の速度で該ゾルから該表面を引き上げる工程；  
e) 任意に所定の時間、該被覆表面を熱処理する工程；  
f) 任意に該被覆表面を洗浄する工程；  
g) 任意に該被覆表面を乾燥させる工程；  
h) 1層以上の被覆物が望ましい場合、望ましい数の被覆物の層を得るために多数回、少なくとも工程c)およびd)を、また任意に工程a)からg)のいずれかをも繰り返す工程；および

j) 軟組織付着が望まれるところに該表面を適用する工程  
からなることを特徴とする請求項1、2、3、4、5、6または7記載の方法。

## 【請求項9】

前記ゾルが、 $TiO_2$ ゾル、 $SiO_2$ ゾル、および $TiO_2-SiO_2$ ゾルからなる群から選択されることを特徴とする請求項8記載の方法。

## 【請求項10】

前記ゾルの調製が、

i) テトライソプロピル オルトチタネート  $Ti((CH_3)_2CHO)_4$  および／またはテトラエチルオルトシリケートをエタノールに溶解する工程；  
ii) エチレングリコール モノエチルエーテル ( $C_2H_5OCH_2CH_2OH$ )、脱イオン水、および塩酸または硝酸をエタノールに溶解する工程；

iii) 工程 i) および ii) で得られた溶液を混合し、ついで任意に該混合物を効果的に攪拌する工程

からなることを特徴とする請求項 8 記載の方法。

【請求項 11】

前記ゾルが、工程 c) の間、 $-10 \sim +20^{\circ}\text{C}$ 、好ましくは  $-5 \sim +5^{\circ}\text{C}$ 、最も好ましくは  $-2 \sim +2^{\circ}\text{C}$  の冷却温度であることを特徴とする請求項 8、9 または 10 記載の方法。

【請求項 12】

工程 a) において調製されたゾルが、工程 b) において 1 分～10 日間、好ましくは 1～48 時間熟成されることを特徴とする請求項 8、9、10 または 11 記載の方法。

【請求項 13】

前記表面が、工程 c) においてゾルに浸漬することによって該ゾルに接触され、工程 d) において該ゾルから  $0.01 \text{ mm/s} \sim 10 \text{ mm/s}$  の速度で、好ましくは  $0.1 \text{ mm/s} \sim 1.0 \text{ mm/s}$  の速度で引き上げられること特徴とする請求項 8、9、10、11 または 12 記載の方法。

【請求項 14】

前記表面が、工程 e) において  $20 \sim 630^{\circ}\text{C}$  の温度で、好ましくは  $30 \sim 45^{\circ}\text{C}$ 、 $90 \sim 160^{\circ}\text{C}$ 、または  $250 \sim 630^{\circ}\text{C}$  の温度で、熱処理されることを特徴とする請求項 8、9、10、11、12 または 13 記載の方法。

【請求項 15】

工程 e) における熱処理が、0.1 秒～10 日間、好ましくは 1 秒～10 時間、最も好ましくは 1 分～1 時間行なわれることを特徴とする請求項 8、9、10、11、12、13 または 14 記載の方法。

【請求項 16】

前記被覆物が、工程 f) において、超音波によって洗浄されることを特徴とする請求項 8、9、10、11、12、13、14 または 15 記載の方法。

【請求項 17】

a) 擬似体液を調製する工程；

b) 溶解 Si 源および／または Ti 源を、工程 a) において調製された擬似体液に添加する工程；

c) 軟組織が付着される表面に、工程 b) において得られた混合物を接触させる工程であって、該接触が任意に該表面を該混合物に浸漬することによって行なわれる工程；

d) 前記材料の表面上に吸着および／または再沈殿されるように、溶解  $\text{SiO}_2$  基材および／または  $\text{TiO}_2$  基材から被覆物を形成させる工程；および

e) 該表面を軟組織付着が望まれるところへ適用する工程

からなることを特徴とする請求項 1、2、3、4、5、6 または 7 記載の方法。

【請求項 18】

前記 Si 源が、生体活性ガラスまたはゾルーゲル法により調製された  $\text{SiO}_2$  であることを特徴とする請求項 17 記載の方法。

【請求項 19】

工程 a) の前記擬似体液が、体液に似ている溶液、または体液の pH、すなわち pH 7.2～7.4 に緩衝化した溶液であることを特徴とする請求項 17 または 18 記載の方法。

【請求項 20】

前記擬似体液が、 $1.0 \sim 1.5 \text{ mM}$  の  $\text{Mg}^{2+}$ 、 $1.6 \sim 2.5 \text{ mM}$  の  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $103 \sim 147.8 \text{ mM}$  の  $\text{Cl}^-$ 、および  $4.2 \sim 27 \text{ mM}$  の  $\text{HCO}_3^-$  を含有する SBF であることを特徴とする請求項 17、18 または 19 記載の方法。

【請求項 21】

軟組織に付着される予定の移植片の表面が、 $\text{TiO}_2$  および／または  $\text{SiO}_2$  を豊富に含有する被覆物でコートされた移植片であって、該被覆物が多孔性であることを特徴とする移植片。

【請求項 22】

10

20

30

40

50

前記被覆物が、50 nm未満の直径を有する細孔からなることを特徴とする請求項21記載の移植片。

【請求項23】

前記被覆物の必須部分の細孔が、2～50 nmの直径および少なくとも1 nmの深さを有する細孔からなることを特徴とする請求項22記載の移植片。

【請求項24】

前記被覆物が、

- a)  $\text{TiO}_2$ 、 $\text{SiO}_2$ または $\text{TiO}_2\text{—SiO}_2$ ゾルを調製する工程；
- b) 任意に該ゾルを熟成させる工程；
- c) 軟組織が付着される表面に、工程a)において調製され、ついで工程b)において熟成された該ゾルを接触させる工程であって、該接触が該表面を該ゾルに浸漬することによって任意に行なわれる工程；
- d) 工程c)の接触が該表面を該ゾルに浸漬することによって行なわれる場合、被覆表面を得るために、所定の速度で該ゾルから該表面を引き上げる工程；
- e) 任意に所定の時間、該被覆表面を熱処理する工程；
- f) 任意に該被覆表面を洗浄する工程；
- g) 任意に該被覆表面を乾燥させる工程；および
- h) 1層以上の被覆物が望ましい場合、望ましい数の被覆物の層を得るために多数回、少なくとも工程c)およびd)を、また任意に工程a)からg)のいずれかをも繰り返す工程

からなる方法を用いて得られることを特徴とする請求項21、22または23記載の移植片。

【請求項25】

前記被覆物が、

- a) 擬似体液を調製する工程；
- b) 溶解Si源を、工程a)において調製された擬似体液に添加する工程；
- c) 軟組織が付着される表面に、工程b)において得られた混合物を接触させる工程であって、該接触が任意に該表面を該混合物に浸漬することによって行なわれる工程；および
- d) 前記材料の表面上に吸着および／または再沈殿されるように、溶解 $\text{SiO}_2$ 基材から被覆物を形成させる工程

からなる方法を用いて得られることを特徴とする請求項21、22または23記載の移植片。

【請求項26】

$\text{TiO}_2$ 、 $\text{SiO}_2$ 、または $\text{TiO}_2$ および $\text{SiO}_2$ を豊富に含有する多孔性表面被覆物への軟組織付着のための移植片を製造するための、該被覆物の使用。

【請求項27】

前記被覆物が、50 nm未満の直径を有する細孔からなることを特徴とする請求項26記載の使用。

【請求項28】

前記被覆物の必須部分の細孔が、2～50 nmの直径および少なくとも1 nmの深さを有する細孔からなることを特徴とする請求項27記載の使用。

【請求項29】

被覆される移植片の材料が、チタニウム、ニチノール、セラミックおよびポリマー材料、ならびにそれらの組合わせからなる群から選択されることを特徴とする請求項26、27または28記載の使用。

【請求項30】

前記被覆物が、

- a)  $\text{TiO}_2$ 、 $\text{SiO}_2$ または $\text{TiO}_2\text{—SiO}_2$ ゾルを調製する工程；
- b) 任意に該ゾルを熟成させる工程；
- c) 軟組織が付着される表面に、工程a)において調製され、ついで工程b)において熟

成された該ゾルを接触させる工程であって、該接触が任意には該表面を該ゾルに浸漬することによって行なわれる工程；

d) 工程 c) の接触が該表面を該ゾルに浸漬することによって行なわれる場合、被覆表面を得るために、所定の速度で該ゾルから該表面を引き上げる工程；

e) 任意に所定の時間、被覆表面を熱処理する工程；

f) 任意に該被覆表面を洗浄する工程；

g) 任意に該被覆表面を乾燥させる工程；および

h) 1 層以上の被覆物が望ましい場合、望ましい数の被覆物の層を得るために多数回、少なくとも工程 c) および d) を、また任意に工程 a) から g) のいずれかをも繰り返す工程

10

からなる方法によって得られることを特徴とする、該被覆物への軟組織付着のための移植片を製造するための請求項 26、27、28 または 29 記載の使用。

【請求項 31】

前記ゾルが、 $TiO_2$  ゾル、 $SiO_2$  ゾル、および  $TiO_2-SiO_2$  ゾルからなる群から選択されることを特徴とする請求項 30 記載の使用。

【請求項 32】

前記ゾルの調製が、

i) テトライソプロピル オルトチタネート  $Ti((CH_3)_2CHO)_4$  および／またはテトラエチルオルトシリケートをエタノールに溶解する工程；

ii) エチレングリコール モノエチルエーテル ( $C_2H_5OCH_2CH_2OH$ )、脱イオン水、および塩酸または硝酸をエタノールに溶解する工程；

20

iii) 工程 i) および ii) で得られた溶液を混合し、ついで任意に該混合物を効果的に攪拌する工程

からなることを特徴とする請求項 30 または 31 記載の使用。

【請求項 33】

前記ゾルが、工程 c) の間、 $-10 \sim +20^\circ C$ 、好ましくは  $-5 \sim +5^\circ C$ 、最も好ましくは  $-2 \sim +2^\circ C$  の冷却温度であることを特徴とする請求項 26、27、28、29、30、31 または 32 記載の使用。

【請求項 34】

工程 a) において調製されたゾルが、工程 b) において 1 分～10 日間、好ましくは 1 時間～48 時間熟成されることを特徴とする請求項 26、27、28、29、30、31、32 または 33 記載の使用。

30

【請求項 35】

前記表面が、工程 c) においてゾルに浸漬させることによって該ゾルに接触され、工程 d) においてゾルから  $0.01 mm/s \sim 10 mm/s$  の速度で、好ましくは  $0.1 mm/s \sim 1.0 mm/s$  の速度で引き上げられることを特徴とする請求項 26、27、28、29、30、31、32、33 または 34 記載の使用。

【請求項 36】

前記表面が、工程 e) において  $20 \sim 630^\circ C$  の温度で、好ましくは  $30 \sim 45^\circ C$ 、 $90 \sim 160^\circ C$ 、または  $250 \sim 630^\circ C$  の温度で、熱処理されることを特徴とする請求項 26、27、28、29、30、31、32、33、34 または 35 記載の使用。

40

【請求項 37】

工程 e) における熱処理が、0.1 秒～10 日間、好ましくは 1 秒～10 時間、最も好ましくは 1 分～1 時間行なわれることを特徴とする請求項 26、27、28、29、30、31、32、33、34、35 または 36 記載の使用。

【請求項 38】

前記被覆物が、工程 f) において、超音波によって洗浄されることを特徴とする請求項 26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36 または 37 記載の使用。

【請求項 39】

50

前記被覆物が、

a) 擬似体液を調製する工程；

b) 溶解 Si 源および／または Ti 源を、工程 a) において調製された擬似体液に添加する工程；

c) 軟組織が付着される表面に、工程 b) において得られた混合物を接触させる工程であって、該接触が任意に該表面を該混合物に浸漬することによって行なわれる工程；および

d) 前記材料の表面上に吸着および／または再沈殿されるように、溶解 SiO<sub>2</sub> 基材および／または TiO<sub>2</sub> 基材から被覆物を形成させる工程

からなる方法によって得られることを特徴とする、該被覆物への軟組織付着のための移植片を製造するための請求項 26、27、28 または 29 記載の表面被覆物の使用。

10

【請求項 40】

前記 Si 源が、生体活性ガラスまたはゾルーゲル法により調製された SiO<sub>2</sub> であることを特徴とする請求項 39 記載の使用。

【請求項 41】

工程 a) の擬似体液が、体液に似ている溶液、または体液の pH、すなわち pH 7.2～7.4 に緩衝化した溶液であることを特徴とする請求項 39 または 40 記載の使用。

【請求項 42】

前記擬似体液が、1.0～1.5 mM の Mg<sup>2+</sup>、1.6～2.5 mM の Ca<sup>2+</sup>、103～147.8 mM の Cl<sup>-</sup>、および 4.2～27 mM の HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> を含有する SBF であることを特徴とする請求項 39、40 または 41 記載の使用。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、被覆物を用いる軟組織付着の改善方法、ならびに移植片作製のための該方法の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

様々な生体材料の骨組織接着 (bone bonding) を改善するために、いくつかの表面処理が開発されている。実験動物において、ヒドロキシアパタイト (HA) コーティングは、骨組織接着の形成を改善および促進することが見出された。したがって、ほとんどの表面処理の目的は、材料表面上に HA を付与することであった。

30

【0003】

移植された生体材料と周囲の軟組織との間の安定な結合は、多くの場合、改善された骨組織接着よりもはるかに重要である。結合組織被膜 (connective tissue capsule) は、通常、移植された材料の周りに数日の間に形成する。被膜の厚さは、当該材料および回復の段階に依存して変化する。上皮の内張り、その範囲の組織において解剖学的に標準的である軟組織成分から、皮膚または粘膜を貫くすべての移植器具を分離する。移植片と軟組織との間の直接的な結合は、いくつかの医療器具 (たとえば、歯科用移植片、カニューレ (canyls)、ステント、外固定ピン (external fixation pins)) に有用である。今日まで、移植片と軟組織との間の安定で安全な統合を保証できる方法は、開発されていなかった。

40

【発明の開示】

【0004】

本発明の 1 つの目的は、軟組織付着の改善方法を提供することである。

【0005】

本発明のもう 1 つの目的は、改善された軟組織付着を有する移植片を提供することである。

【0006】

本発明の第 3 の目的は、新規な使用、すなわち、改善された軟組織付着のための、TiO<sub>2</sub> および／または SiO<sub>2</sub> を豊富に含有する多孔性被覆物の使用を提供することである。

50

## 【0007】

このように、1つの局面によると、本発明は、軟組織付着の改善方法であって、軟組織が付着される材料の表面を、 $TiO_2$ および／または $SiO_2$ を豊富に含有する被覆物でコーティングする工程、および軟組織付着が望まれるところに該被覆物を適用する工程からなる方法に関する。

## 【0008】

もう1つの局面によると、本発明は、軟組織に付着される予定の移植片の表面が、 $TiO_2$ および／または $SiO_2$ を豊富に含有する多孔性被覆物でコートされた移植片に関する。

## 【0009】

第3の局面によると、本発明は、 $TiO_2$ 、 $SiO_2$ 、または $TiO_2$ および $SiO_2$ を豊富に含有する多孔性表面被覆物への軟組織付着のための移植片を製造するための、該被覆物の使用に関する。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0010】

本明細書中における「生物医学的適用」は、広範囲の状況において理解されることを意図する。したがって、インビボ適用およびインビトロ適用の両方が包含される。

## 【0011】

用語「軟組織」は、石化した硬組織を除くすべての哺乳動物組織を言う。軟組織は、たとえば皮下および皮膚の結合組織、筋骨格結合組織、筋肉、上皮、粘膜ならびに神経組織を包含する。

## 【0012】

「軟組織付着」は、本明細書中において、介在する結合組織被膜のない、コートされた材料と周囲の軟組織との間の良好な接着を言う。

## 【0013】

「 $TiO_2$ および／または $SiO_2$ を豊富に含有する被覆物」という言及は、被覆物の必須部分が $TiO_2$ および／または $SiO_2$ であることを意味する。典型的には、被覆物の組成の50重量%以上が $TiO_2$ および／または $SiO_2$ である。好ましくは、被覆物の組成の70重量%以上が $TiO_2$ および／または $SiO_2$ であり、最も好ましくは90重量%以上である。

## 【0014】

本明細書中における用語「移植片」は、少なくとも軟組織付着が起こるほど長い連続した期間、少なくとも部分的にヒトなどの哺乳動物に挿入される、あらゆる器具のことを言う。

## 【0015】

用語「生体適合性」は、被覆材料のほかの要素と適合し、その受容者に害を及ぼさないことを意味する。

## 【0016】

用語「組織欠陥」は、前記哺乳動物の体の部位に対して解剖学的に標準的な軟組織成分が欠けている、あらゆる部位または場所を言う。

## 【0017】

本発明は、軟組織が付着される材料の表面を、 $TiO_2$ および／または $SiO_2$ （またはほかの金属酸化物、たとえば、 $TaO_2$ もしくは $ZrO_2$ ）を豊富に含有する被覆物でコーティングする工程、および軟組織付着が望まれるところに該被覆物を適用する工程からなる、軟組織付着の改善方法を提供する。必須ではないが、被覆物が多孔性であることが本発明に対して非常に好ましい。典型的には、該被覆物は50nm未満の直径および／または深さを有する細孔を含有する。好ましくは、該被覆物の必須部分の細孔は、2～50nmの直径および少なくとも1nmの深さを有する細孔からなる。被覆される材料は、典型的にはチタニウム、ニチノール、セラミックおよびポリマー材料ならびにそれらの組合わせからなる群から選択される。

## 【0018】

前記方法は、好ましくは、

- a)  $TiO_2$ 、 $SiO_2$ または $TiO_2-SiO_2$ ゾルを調製する工程；
- b) 該ゾルを熟成させる工程；
- c) 軟組織が付着される表面に、工程a)において調製され、ついで工程b)において熟成された該ゾルを接触させる工程であって、該接触が該表面を該ゾルに浸漬することによって任意に行なわれる工程；
- d) 工程c)の接触が該表面を該ゾルに浸漬することによって行なわれる場合、被覆表面を得るために、所定の速度で該ゾルから該表面を引き上げる工程；
- e) 任意に所定の時間、該被覆表面を熱処理する工程；
- f) 任意に該被覆表面を洗浄する工程；
- g) 任意に該被覆表面を乾燥させる工程；
- h) 1層以上の被覆物が望ましい場合、望ましい数の被覆物の層を得るために多数回、少なくとも工程c)およびd)を、また任意に工程a)からg)のいずれかをも繰り返す工程、および
- j) 軟組織付着が望まれるところに該表面を適用する工程からなる。

10

## 【0019】

前記ゾルは $TiO_2$ ゾル、 $SiO_2$ ゾルおよび／または $TiO_2-SiO_2$ ゾルであり得る。該ゾルの調製は、(i)エタノールに、テトライソプロピル オルトチタネート $Ti((CH_3)_2CHO)_4$ および／またはテトラエチルオルトシリケートを溶解する工程；(ii)エタノールに、エチレングリコール モノエチルエーテル( $C_2H_5OCH_2CH_2OH$ )、脱イオン水、および塩酸または硝酸を溶解する工程；(iii)工程(i)および(ii)で得られた溶液を混合し、ついで任意に該混合物を効果的に攪拌する工程からなる。

20

## 【0020】

前記ゾルは、工程c)の間、典型的には $-10 \sim +20^\circ C$ 、好ましくは $-5 \sim +5^\circ C$ 、および最も好ましくは $-2 \sim +2^\circ C$ の冷却温度である。工程a)において調製されたゾルは、工程b)において1分～10日間、好ましくは1～48時間熟成される。該表面は、工程c)において該ゾルに浸漬することによって該ゾルに接触され、通常、工程d)において該ゾルから、 $0.01 mm/s \sim 10 mm/s$ 、好ましくは $0.1 mm/s \sim 1.0 mm/s$ の速度で引き上げられる。あるいは、該表面のゾルとの接触は噴霧または縮合などのほかの手段によって行なうことができる。

30

## 【0021】

前記表面は、典型的には、工程e)において $20 \sim 630^\circ C$ の温度で熱処理され、もしたとえば前記被覆物がさらに生体活性剤などの熱変動性成分を含む場合、熱処理は、好ましくは $30 \sim 45^\circ C$ の温度で行なわれる。熱処理は、前記被覆材料の熱特性に依存してより高い温度で行なわれることもできる。いくつかの材料における好ましい温度範囲は、 $90 \sim 160^\circ C$ および $250 \sim 630^\circ C$ である。熱処理の持続時間は、変化させることができる。工程e)における熱処理は、典型的には0.1秒～10日間、好ましくは1秒～10時間、より好ましくは1分～1時間行なわれる。熱処理温度が高ければ高いほど、長期間の熱処理は好ましくない。

40

## 【0022】

得られる被覆物は、典型的には工程f)において洗浄され、好ましくは、洗浄は超音波で行なわれる。

## 【0023】

あるいは、本発明によると、軟組織付着を改善するための被覆物の好ましい調製方法は、

- a) 擬似体液(simulated body fluid)を調製する工程；
- b) 溶解Si源および／またはTi源を、工程a)において調製された擬似体液に添加する工程；
- c) 軟組織が付着される表面に、工程b)において得られた混合物を接触させる工程であ

50



って、該接触が任意に該表面を該混合物に浸漬することによって行なわれる工程；  
 d) 前記材料の表面上に吸着および／または再沈殿されるように、溶解  $\text{SiO}_2$  基材および／または  $\text{TiO}_2$  基材から被覆物を形成させる工程；および  
 e) 軟組織付着が望まれるところへ該表面を適用する工程  
 からなる。

#### 【0024】

典型的な  $\text{Si}$  源は、生体活性ガラスまたはゾルーゲル法により調製された  $\text{SiO}_2$  (sol-gel derived  $\text{SiO}_2$ ) である。工程 a) の擬似体液は、体液に似ている溶液、または体液の pH、すなわち pH 7.2～7.4 に緩衝化した溶液である。

#### 【0025】

好ましい擬似体液 (SBF) は、 $\text{NaCl}$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{KCl}$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  および  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  の試薬用薬品を脱イオン水に溶解することによって調製される。体液は、37℃で、トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタンおよび塩酸で生理学的な pH 7.40 に緩衝化される。得られる液体は、以下のイオン濃度を提供する体液の無機成分を模倣している：142.0 mM  $\text{Na}^+$ 、5.0 mM  $\text{K}^+$ 、1.5 mM  $\text{Mg}^{2+}$ 、2.5 mM  $\text{Ca}^{2+}$ 、147.8 mM  $\text{Cl}^-$ 、4.2 mM  $\text{HCO}_3^-$ 、1.0 mM  $\text{HPO}_4^{2-}$  および 0.5 mM  $\text{SO}_4^{2-}$ 。

#### 【0026】

擬似体液の濃度はわずかに変化できる。たとえば、1.0～1.5 mM の  $\text{Mg}^{2+}$ 、1.6～2.5 mM の  $\text{Ca}^{2+}$ 、103～147.8 mM の  $\text{Cl}^-$  および／または 4.2～27 mM の  $\text{HCO}_3^-$  からなり得る。

#### 【0027】

本発明はさらに、軟組織へ付着される予定である移植片の表面を、 $\text{TiO}_2$  および／または  $\text{SiO}_2$  が豊富に含有する被覆物でコートされた該移植片を提供する。典型的には、該被覆物は 50 nm 未満の直径を有する細孔からなり、好ましくは、該被覆物の必須部分の細孔は、2～50 nm の直径および少なくとも 1 nm の深さを有する細孔からなる。被覆される移植片の材料は、典型的にはチタニウム、タンタル、ジルコニウム、ニチノール、セラミックおよびポリマー材料、ならびにそれらの組合わせからなる群から選択される。

#### 【0028】

移植片の被覆物は、

- a)  $\text{TiO}_2$ 、 $\text{SiO}_2$  または  $\text{TiO}_2$  -  $\text{SiO}_2$  ゾルを調製する工程；
- b) 該ゾルを任意に熟成させる工程；
- c) 軟組織が付着される表面に、工程 a) において調製され、ついで工程 b) において熟成された該ゾルを接触させる工程であって、該接触が該表面を該ゾルに浸漬することによって任意に行なわれる工程；
- d) 工程 c) の該接触が該表面を該ゾルに浸すことによって行なわれた場合、被覆表面を得るために、所定の速度で該ゾルから該表面を引き上げる工程；
- e) 任意に所定の時間、被覆表面を熱処理する工程；
- f) 任意に該被覆表面を洗浄する工程；
- g) 任意に該被覆表面を乾燥させる工程；および
- h) 1 層以上の被覆物が望ましい場合、望ましい数の被覆物の層を得るために多数回、少なくとも工程 c) および d) を、また任意に工程 a) から g) のいずれかをも繰り返す工程

からなる方法を用いて得られる。

#### 【0029】

あるいは、前記被覆物は、

- a) 擬似体液を調製する工程；
- b) 溶解  $\text{Si}$  源を、工程 a) において調製された擬似体液に添加する工程；
- c) 軟組織が付着される表面に、工程 b) において得られた混合物を接触させる工程であ

って、該接触が任意に該表面を該混合物に浸漬することによって行なわれる工程；および  
d) 前記材料の表面上に吸着および／または再沈殿されるように、溶解  $\text{SiO}_2$  基材から  
被覆物を形成させる工程  
からなる方法を用いて得られる。

【0030】

ほかの典型的な、好ましい、または最も好ましい前記移植片の表面被覆物の性質は、移植  
片の表面被覆物に適用できる方法について、前記において定義されたものと同じである。

【0031】

本発明はさらに、前記被覆物への軟組織付着のための移植片を製造するための、 $\text{TiO}_2$   
、 $\text{SiO}_2$ 、または  $\text{TiO}_2$  および  $\text{SiO}_2$  を豊富に含有する表面被覆物の使用を提供する  
。典型的には、該被覆物は、50 nm 未満の直径を有する細孔からなり、好ましくは、該  
被覆物の必須部分の細孔は、2～50 nm の直径および少なくとも 1 nm の深さを有する  
細孔からなる。被覆される移植片の材料は、典型的にはチタニウム、ニチノール、セラミ  
ックおよびポリマー材料、またはそれらの組合わせである。

10

【0032】

ほかの典型的な、好ましい、または最も好ましい使用される前記表面被覆物の性質は、使  
用において適用できる方法および／または移植片被覆物について、前記において定義され  
たものと同じである。

【0033】

したがって、本発明は物質、たとえば、金属、セラミックまたはポリマー材料の表面処理  
に関するものであり、 $\text{TiO}_2$  および／または  $\text{SiO}_2$  を豊富に含有する被覆物を介して軟  
組織付着を可能にする。 $\text{TiO}_2$  および／または  $\text{SiO}_2$  被覆物の  $\text{OH}^-$  基は、たとえば、  
フィブロネクチン糖タンパク質を結合することによって、材料表面における哺乳動物結合  
組織細胞（線維芽細胞）の走化性、移動、および接着を促進する。経皮的な器具において  
、これは上皮細胞が軟組織成分と移植材料との間に増殖するのを防ぐ  $\text{SiOH}$  または  $\text{Ti}$   
 $\text{OH}$  コートされた表面において、線維芽細胞様細胞の直接的な付着を促進させる。皮下器  
具において、軟組織は介在する結合組織被膜なしで、コートされた材料表面に付着する。  
あるいは、被覆物は、臓器の上皮層および内皮への付着、ならびに皮膚創傷の再上皮化を  
促進できる。被覆物は、神経再生を行なうために使用できる。

20

【0034】

ゾルーゲル浸漬コーティング法 (a sol-gel dip-coating method) は、移植片の表面に均  
一な多層生体活性被覆物を付与するための 1 つの方法である。この方法によって、無機酸  
化セラミックは、コロイド状ゾルおよびポリマーゾルから調製できる。それは、得られる  
セラミックの、組成、表面面積、多孔性、吸着能力、分解速度などの種々の性質を制御す  
るために、柔軟性を供与する。種々のゾルーゲル法により調製されたチタニアおよびシリ  
カ被覆物は、組成を変化させ、ゾルに対して種々の熟成時間を使用し、熱処理温度および  
被覆層の数を変化させることによって作製できる。さらに、表面性質 ( $\text{OH}^-$  基、ナノス  
ケールの局所解剖学および結晶化度) は、レーザー処理の助けによって局所的に変化でき  
る。

30

【0035】

本発明はまた、軟組織の欠陥、たとえば上顎骨、下顎骨、歯、根管、耳、鼻、頭蓋骨、関  
節、骨ならびに皮下および皮内の軟組織における欠陥、たとえば移植片、外固定ピン、組  
織誘導膜骨増生材料 (tissue guiding membranes bone augmentation materials)、皮膚  
を貫くカニューレ、ステント、血管移植片、弁および豊胸移植片の被覆物による治療を意  
図する製品における前記コーティング方法の使用にも関する。

40

【0036】

本発明はさらに、軟組織動物細胞の培養に使用される被覆表面または組織工学器具の被覆  
ための本発明による被覆物の使用などの、インビトロ適用に関する。

【0037】

本発明は、生物学的に許容し得る方法、すなわち材料がヒトなどの哺乳動物に移植される

50

、材料（たとえば、金属、ポリマー、セラミック）表面上で作製され得る、ゾルーゲル法により調製された $TiO_2$ または $SiO_2$ 被覆物を提供する。好ましくは、該材料は $TiO_2$ または $SiO_2$ ゾルに浸漬される。様々なチタニアおよびシリカ被覆物は、組成を変化させ、ゾルに対して種々の熟成時間を使用し、熱処理温度および被覆層の数を変化させることによって作製できる。

#### 【0038】

本発明の被覆物は、たとえば以下のように作製できる（Peltola, Timo: Nanoscale Dimensions and In Vitro Calcium Phosphate Formation: Studies on Sol-gel-derived Materials and Bioactive Glass. Thesis, University of Turku, Turku, Finland, 2000）。

#### 【0039】

工業用純（c. p.） $Ti$ （等級2）を、基体材料として使用する。 $Ti$ を炭化ケイ素紙で磨く。商業的に入手可能なテトライソプロピル オルトチタネート  $Ti((CH_3)_2CHO)_4$ またはテトラエチルオルトシリケートを、無水エタノールに溶解する（溶液I）。エチレングリコール モノエチルエーテル（ $C_2H_5OCH_2CH_2OH$ ）、脱イオン水、および発煙塩酸（ $HCl$ 、37%）または硝酸をエタノールに溶解する（溶液II）。溶液IおよびIIを混合し、効果的に攪拌する。既に作製されたゾルを縮合反応の速度を落とすために0℃に維持する。ゾルは浸漬—コーティングプロセスの間は0℃に維持する。

#### 【0040】

1時間または24時間の熟成ののち、被覆物は、 $Ti$ 基体をゾルに浸漬させ、ついで0.30mm/sの速度で引き上げることによって作製される。被覆基体は、10分間、熱処理（20～500℃）される。熱処理後、被覆物はアセトン中で5分間、ついでエタノール中でさらに5分間の超音波処理により洗浄され、最終的に周囲の温度で乾燥される。この浸漬、熱、および洗浄のサイクルは、望ましい被覆層の数に依存して、必要に応じた回数繰り返される。前記ゾルは、最終被覆物中に誘導されるであろう薬剤、鉱化（mineralizing）剤もしくは抗菌剤（たとえば、生体活性ガラス、ゾルーゲル法により調製されたセラミック）、成長因子、防腐剤、着色剤、血量促進剤（flow enhancing）、接着もしくは懸濁促進剤などの、1つ以上の活性または非活性剤を任意に含有することができる。浸漬プロセスの間、 $TiO_2$ および $SiO_2$ ゾル中の活性剤の濃度は、均質な状態である。

#### 【0041】

被覆物は、たとえば以下のように、外部 $Si$ および/または $Ti$ 源を用いて生物模倣技術的に作製することもできる（Jokinen, Mika: Bioceramics by Sol-gel Method, Processing and Properties of Monoliths, Films and Fibers. Thesis, Åbo Akademi University, Turku, Finland, 1999）。

#### 【0042】

$Si$ 源は、擬似体液条件において、たとえば、生体活性ガラスまたはゾルーゲル法により調製された $SiO_2$ などの可溶性 $SiO_2$ 基材である。 $Ti$ 移植片またはポリマーなどの基体を、 $Si$ 源を含有する溶液の中に入れると、そこで溶解 $SiO_2$ 基材は、基体表面上に吸着および/または再沈殿されるように、被覆物を形成する。該溶液は好ましくは、SBFなどの体液に似ている溶液、または体液のpHに緩衝化された溶液（pH7.2～7.4）である。形成された被覆物は、（SBFを用いる場合がそうであるのだが）溶液がカルシウムおよびリン酸イオンを含有していさえすれば、ヒドロキシアパタイトを同一の溶液から直接凝集させることができる。被覆基体が、カルシウムおよびリン酸イオンを含有しない緩衝溶液（pH7.2～7.4）で作製される場合、またはヒドロキシアパタイト形成を促進させることを望む場合は、被覆基体はさらに、カルシウムリン酸イオンを含有するほかの液（1.0～2.0×SBF（係数により乗じたイオン濃度）など）に移すことができる。あるいは、被覆物は、レーザー技術を用いて、医療器具の正確に決定された部分に作製できる。

#### 【0043】

$CO_2$ レーザーは、スペクトルの赤外線部分、10.6μmで作動する。放射線は、ゾル

10

20

30

40

50

ーゲル法により調製されたチタニアまたはシリカゲルによって吸収される。該基体は、局所的に熱されるのみであり、被覆物は選択的に処理でき、それにより同一の被覆物の異なる領域に異なる性質を持たせることができる。ゾルーゲル法により調製された被覆物の高密度化の程度は、適切なプロセッシングパラメーター、たとえばレーザー力、レーザービーム遷移速度および焦点化されたレーザービームのスポットのサイズを選択することによって制御できる。

#### 【0044】

ある臨床適用の必要に応じて、処理中、コンピュータ制御された可動試料台を使用することによって、医療用移植片上にパターン化された被覆物を作製すること、すなわち移植片の特定の部分のみをコートすることが可能である。c. p. Ti（等級2）の1mmの薄さのシートは、基体材料としてしばしば使用される。Ti基体プレートは、ゾルに浸漬される。各層はまず、加熱炉中で熱処理され、そののちさらに、局所的にCO<sub>2</sub>レーザーで（2つの3mmレーン）で処理される。使用できるパワー範囲は、12～20Wである。2つの隣接するレーザースキャンラインの間の距離は、100μmに維持できる。移動速度は2.5mm/sであり得る。

#### 【0045】

あるいは、SiO<sub>2</sub>セラミックは、水性環境下で、前記被覆物と同様に機能する複合材料上にSiが豊富な表面を形成する、ポリマー材料に混合できる。

#### 【0046】

前記被覆物は、組織欠陥に前記被覆材料を挿入すること、または問題とされている解剖組織上の構造（anatomic structures）を保護するために該被覆材料を移植することからなる、それらを必要とする患者の軟組織構造の再構築または増生において用いられる生体材料に適用できる。被覆材料は、再吸収可能または再吸収不可能なもののどちらかであり得る。

#### 【0047】

本発明の方法によって治療可能な解剖組織上の構造としては、上顎骨、下顎骨、歯、根管、骨の欠陥、耳、鼻、頭蓋骨、関節、ならびに皮下、経皮および皮内の軟組織または真皮の軟組織があげられるが、これらに制限されるものではない。

#### 【0048】

本発明における好ましいTiO<sub>2</sub>およびSiO<sub>2</sub>被覆物は、（a）ゾルーゲル被覆物が、小器具をコートできる薄い層で作製できること；（b）生体活性成分、たとえば薬剤、成長因子を該被覆物に添加できること；（c）被覆物が多孔性の表面および構造に適用できること、に基づいて選択される。

#### 【0049】

以下の実施例は、本発明の説明として提供されるものであり、それらに限定するものとして構成されているのではない。

#### 【実施例1】

#### 【0050】

TiO<sub>2</sub>被覆物を、前記のように、経皮的な歯科移植片の橋脚歯上に作製する。充分な回復期間ののち、埋め込まれた移植片を露出し、その保護ねじを除去し、TiO<sub>2</sub>コートされたTi橋脚歯をオッセオインテグレートッド移植片に結合する。軟組織創傷の回復中、結合組織成分を直接コートされたTi表面に付着させることによって、移植片と周囲の軟組織成分との間の上皮の内張りの形成を予防する。

#### 【実施例2】

#### 【0051】

埋め込む期間なしで口腔に直接結合する一段階の移植片の上部に、被覆物を適用すること以外は、実施例1と同様である。

#### 【実施例3】

#### 【0052】

外部骨折の固定（external fracture fixation）のために使用される固定ピンに被覆物を

10

20

30

40

50

適用すること以外は、実施例 1 と同様である。

【実施例 4】

【0053】

経皮的なプラスチックステントに被覆物を適用すること以外は、実施例 1 と同様である。

【実施例 5】

【0054】

ポリマー、セラミック、または金属歯冠の歯肉縁下部分に、 $\text{SiO}_2$ または $\text{TiO}_2$ 被覆物を適用すること以外は、実施例 1～4 と同様である。

【実施例 6】

【0055】

10

血管ステントに前記被覆物を適用すること以外は、実施例 1～4 と同様である。

【実施例 7】

【0056】

心臓弁移植片材料に前記被覆物を適用すること以外は、実施例 1～4 と同様である。

【実施例 8】

【0057】

豊胸移植片材料に前記被覆物を適用すること以外は、実施例 1～4 と同様である。

【実施例 9】

【0058】

被覆材料表面に、適応した生体活性地帯を生み出すために、 $\text{CO}_2$ レーザーで前記被覆物を

20

【実施例 10】

【0059】

生体活性ガラス顆粒などのセラミック材料を含有する外部の $\text{Si}$ イオンの存在下で、 $\text{SBF}$ 溶液に基体を浸漬することによって、材料表面上に $\text{SiO}_2$ 被覆物を作製する。

【0060】

本発明は、多様な実施態様の形態に包含でき、本明細書中に記載されたのはほんのわずかであることが理解されるであろう。当業者には、ほかの実施態様が存在し、本発明の精神から逸脱しないことは明らかである。したがって、記載された実施態様は例証であって、

30

制限的なものとして解釈されるべきではない。

【図面の簡単な説明】

【0061】

【図 1】 $\text{TiO}_2$ コートされた、およびコートされていない工業用純(c. p.)  $\text{Ti}$ 表面に細胞を播種したのちの、線維芽細胞増殖曲線を示す。細胞増殖は、すでにc. p.  $\text{Ti}$ と比較してから3日後に、コートされた $\text{Ti}$ 表面においてより有意に高かった。

【図 2】 $\text{TiO}_2$ コートされた、およびコートされていないc. p.  $\text{Ti}$ 表面に播種された線維芽細胞の透過型電子顕微鏡(TEM)像を示す。コートされた $\text{Ti}$ に播種された細胞は、c. p.  $\text{Ti}$ 上の細胞と比較して、よりフラットな形状を示し、このことは、細胞膜とコートされた $\text{Ti}$ 表面との間の良好な接着を示すものである。焦点接着小節(focal adhesion nodules)は、コートされた $\text{Ti}$ 表面上で成長した細胞においてはっきり見ることが

40

【図 3】 $\text{TiO}_2$ コートされたc. p.  $\text{Ti}$ 表面に付着した皮下軟組織のTEM像を示す。被覆物は、移植片を除去したのちも組織表面に付着したままである。被膜形成は見られない。

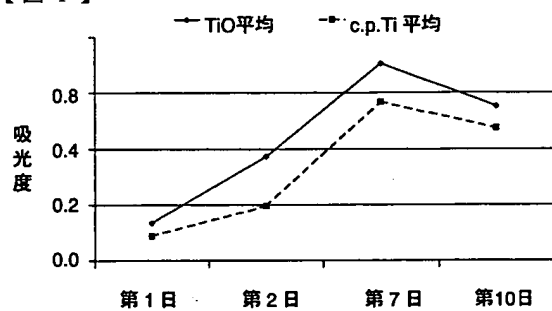
【図 4】ラット皮下周囲における移植から7日後の、 $\text{TiO}_2$ -ゲルコートされたc. p.  $\text{Ti}$ ディスク上の線維芽細胞およびコラーゲン束(collagen bundles)を示す。細胞外マトリクスは、 $\text{TiO}_2$ コートされた表面にしっかりと付着している。

【図 5】図 5 a および 5 b は、ラットにおける皮下移植から8日後の、 $\text{TiO}_2$ -ゲルコートされたc. p.  $\text{Ti}$ ディスク(5 a) および非コートディスク(5 b)の通常光の顕微鏡像を示す。軟組織は、介在する結合組織被膜なしで $\text{TiO}_2$ -ゲルコートされた $\text{Ti}$

50

表面にしっかりと付着している。被膜形成は、c.p.Ti 表面にはっきりと見られる。

【図 1】



## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
7 November 2002 (07.11.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/087648 A1

(51) International Patent Classification: A61L 27/30

(21) International Application Number: PCT/JP02/00345

(22) International Filing Date: 25 April 2002 (25.04.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:  
60/286,587 27 April 2001 (27.04.2001) US

(71) Applicants and

(72) Inventors: NÄRHI, Timo [FI/TT]; Pyhälä Lauri de S B.  
FIN-00340 Helsinki (FI); PALJAN, Heikki [FI/TT]; Laksanen  
18 D 76, FIN-00170 Helsinki (FI); YLI-URPO,  
Aartti [FI/TT]; Vartiokallio 17, FIN-00660 Lohjola (FI);  
PELTOLA, Timo [FI/TT]; Jaakkimäntä 5 D, FIN-20740  
Turku (FI); JOKINEN, Mika [FI/TT]; Mielikinkkari 5, FIN-  
20540 Turku (FI); HAPPONEN, Risto-Pekka [FI/TT]; In-  
nenkatu 25, FIN-21200 Raissa (FI).(74) Agent: TURUN PATENTTI-TOIMISTO OY, P.O. BOX  
90, FIN-20521 Turku (FI).(81) Designated States (national): A1, AG, AI, AM, AT (util-  
ity model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA,CH, CN, CO, CR, CU, CZ (utility model), DE (util-  
ity model), DK, DK (utility model), DK, DM, DZ, EC, EE  
(utility model), EE, ES, FI (utility model), FI, GB, GR, HU,  
CH, CH, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KR, KG, KP, KR, KZ,  
LA, LC, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN,  
MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PL, PL, PT, RO, RU, SD,  
SE, SG, SI, SK (utility model), SK, SL, TH, TM, TN, TR,  
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,  
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),  
European patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR,  
GB, GR, HU, IT, LI, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,  
NE, SN, TD, TO).Published:  
with international search report  
before the expiration of the time limit for amending the  
claims and to be republished in the event of receipt of  
amendmentsFor two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-  
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-  
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/087648 A1

(54) Title: METHOD FOR IMPROVEMENT OF SOFT TISSUE ATTACHMENT AND IMPLANTS MAKING USE OF SAID  
METHOD(57) Abstract: The invention relates to a method for improving soft tissue attachment comprising the steps of coating a surface of  
a material, to which surface soft tissue is to be attached, with a coating rich in TiO<sub>2</sub> and/or SiO<sub>2</sub>, and applying said coating wherein  
soft tissue attachment is desired. The invention further relates to an implant wherein a surface or surfaces of said implant intended to  
be attached to soft tissue are coated with a porous coating rich in TiO<sub>2</sub> and/or SiO<sub>2</sub>. The invention also relates to the use of a porous  
surface coating rich in TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> or TiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub> for the manufacture of an implant for soft tissue attachment to said coating.

WO 02/08764H

PCT/FI02/00345

1

## METHOD FOR IMPROVEMENT OF SOFT TISSUE ATTACHMENT AND IMPLANTS MAKING USE OF SAID METHOD

### FIELD OF INVENTION

The present invention relates to a method for improving soft tissue attachment using  
5 a coating as well as implants making use of said method.

### BACKGROUND OF THE INVENTION

Several surface treatments have been developed in order to improve bone bonding  
of different biomaterials. In experimental animals hydroxyapatite (HA) coatings  
have been found to improve and speed up the formation of bone bonding.  
10 Therefore, the goal of most surface treatments has been to create HA on the  
materials' surfaces.

Firm bond between the implanted biomaterial and the surrounding soft tissue is, in  
many cases, far more important than improved bone bonding. A connective tissue  
capsule normally forms around the implanted materials within a few days.  
15 Thickness of the capsule varies depending on the material in question and the stage  
of healing. Epithelial lining separates all the implanted devices that penetrate skin or  
mucosa from the soft tissue components that are anatomically normal to the tissues  
in that area. A direct bond between the implant and soft tissues would be beneficial  
for several medical devices (e.g. dental implants, canyils, stents, external fixation  
20 pins). Until now no methods have been developed that can guarantee firm and safe  
integration between an implant and the soft tissues.



WO 02/087648

PCT/FI02/00345

2

## OBJECT AND SUMMARY OF THE INVENTION

One object of the present invention is to provide a method for improving soft tissue attachment.

Another object of the present invention is to provide an implant with improved soft tissue attachment.

A third object of the present invention is to provide a new use, i.e. use for improved soft tissue attachment of a porous coating rich in  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$ .

Thus according to one aspect the invention concerns a method for improving soft tissue attachment comprising the steps of

- 10 - coating a surface of a material, to which surface soft tissue is to be attached, with a coating rich in  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$ , and
- applying said coating wherein soft tissue attachment is desired.

According to another aspect the invention concerns an implant wherein a surface or surfaces of said implant intended to be attached to soft tissue are coated with a

15 porous coating rich in  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$ .

According to a third aspect the invention concerns the use of a porous surface coating rich in  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ , or  $\text{TiO}_2$  and  $\text{SiO}_2$ , for the manufacture of an implant for soft tissue attachment to said coating.

## BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

- 20 Figure 1 shows a fibroblast proliferation curve after seeding cells on a  $\text{TiO}_2$  coated and non-coated commercially pure (c.p.) Ti surface. Cell proliferation is significantly higher on the coated Ti surface already after three days when compared to c.p. Ti.

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

3

Figure 2 shows a transmission electron microscope (TEM) image of fibroblasts seeded on a TiO<sub>2</sub> coated and non-coated c.p. Ti surface. Cells seeded on coated Ti show more flattened morphology compared to cells on c.p. Ti indicating good bonding between the cell membrane and coated Ti surface. Focal adhesion nodules can clearly be seen (black arrows) in cells grown on coated Ti surface.

Figure 3 shows a TEM image of subcutaneous soft tissue cells attached on a TiO<sub>2</sub> coated c.p. Ti surface. The coating remains attached on tissue surface after removing the implant. No capsule formation can be seen.

Figure 4 shows fibroblasts and collagen bundles on a TiO<sub>2</sub>-gel coated c.p. Ti disc after 7 days of implantation in rat subcutaneous surrounding. The extracellular matrix is firmly attached on TiO<sub>2</sub> coated surface.

Figure 5a and 5b show routine light microscopy images of a TiO<sub>2</sub>-gel coated c.p. Ti disk (5a) and an non-coated disc (5b) after 8 days of subcutaneous implantation in rat. Soft tissue is firmly attached to a TiO<sub>2</sub>-gel coated Ti surface without an intervening connective tissue capsule. Capsule formation is clearly seen on c.p. Ti surface.

#### DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

"Biomedical application" in the context of this application is meant to be understood in a broad context. Thus both *in vivo* and *in vitro* applications are included.

The term "soft tissue" refers to all mammalian tissues except mineralizing hard tissues. Soft tissues include e.g. subcutaneous and cutaneous connective tissue, musculoskeletal connective tissues, muscle, epithelia, mucosa and nerve tissue.

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

4

"Soft tissue attachment" refers in the context of this application to good bonding between coated material and surrounding soft tissues without an intervening connective tissue capsule.

- 5 Reference to "a coating rich in  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$ " means that an essential part of the coating is  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$ . Typically more than 50 wt-% of the composition of the coating is  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$ . Preferably more than 70 wt-% of the composition of the coating is  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$  and most preferably more than 90 wt-%.

- 10 The term "implant" in the context of this application refers to any device that is meant to at least partially be inserted into a mammal including humans for a period lasting at least long enough for soft tissue attachment to take place.

The term "biocompatible" means compatible with the other ingredients of the coated material and not deleterious to the recipient thereof.

The term "tissue defect" refers to any site or locus being deficient in soft tissue components anatomically normal to the site of the body of said mammal.

- 15 The present invention provides a method for improving soft tissue attachment comprising the steps of coating a surface of a material, to which surface soft tissue is to be attached, with a coating rich in  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$  (or other metallic oxide, e.g.  $\text{TaO}_2$  or  $\text{ZrO}_2$ ), and applying said coating wherein soft tissue attachment is desired. Highly preferable, if not essential, to the invention is that the coating is  
20 porous. Typically the coating comprises pores with a diameter and/or depth of less than 50 nm. Preferably an essential part of the pores of the coating consist of pores having a diameter of 2 to 50 nm and a depth of at least 1 nm. The material to be coated is typically selected from the group consisting of titanium, nitinol, ceramic and polymer material and any combination thereof.

- 25 The method preferably comprises the steps of  
a) preparing a  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  or  $\text{TiO}_2$ - $\text{SiO}_2$  sol;

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

5

- b) aging said sol;
  - c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with said sol which sol has been prepared in step a) and aged in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said sol;
  - 5 d) withdrawing said surface from said sol at a predetermined speed to obtain a coated surface if said contacting of step c) has been carried out by dipping said surface into said sol;
  - e) optionally heat treating the coated surface for a predetermined time;
  - f) optionally cleaning the coated surface;
  - 10 g) optionally drying the coated surface;
  - h) repeating at least steps c) and d), but optionally also any of steps a) to g), a number of times to obtain the desired number of layers of coating if more than one layer of coating is desired; and
  - j) applying said surface where soft tissue attachment is desired.
- 15 The sol can be a  $\text{TiO}_2$  sol, a  $\text{SiO}_2$  sol and/or a  $\text{TiO}_2$ - $\text{SiO}_2$  sol. The preparation of the sol typically comprises the steps of (i) dissolving tetraisopropyl orthotitanate  $\text{Ti}((\text{CH}_3)_2\text{CHO})_4$  and/or tetraethylorthosilicate in ethanol; (ii) dissolving ethyleneglycol monoethylether ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), deionised water, and hydrochloric acid or nitric acid in ethanol; (iii) mixing solutions obtained in step (i)
- 20 and (ii) and optionally stirring said mixture efficiently.

The sol is typically at a chilled temperature of  $-10$  to  $+20$  °C, preferably  $-5$  to  $+5$  °C and most preferably  $-2$  to  $+2$  °C during step c). The sol prepared in step a) is aged in step b) for 1 min to 10 days, preferably for 1 to 48 hours. The surface can be contacted with the sol by dipping it into the sol in step c) and it is typically

25 withdrawn in step d) from the sol at a speed of 0.01 mm/s to 10 mm/s, preferably at a speed of 0.1 mm/s to 1.0 mm/s. Contacting of the surface with the sol can alternatively be carried out by other means such as spraying or condensing.

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

6

The surface is typically heat treated in step e) at a temperature of 20 to 630 °C. Heat treatment is preferably carried out at a temperature of 30 to 45 °C if e.g. the coating additionally comprises heat labile components such as bioactive agents. Heat treatment can also be carried out at higher temperatures depending on the thermal properties of the coated material. Temperature ranges preferable for some materials are 90 to 160 °C and 250 to 630 °C. The duration of the heat treatment can vary. The heat treatment in step e) is typically carried out for 0.1 s to 10 d, preferably for 1 s to 10 h and most preferably for 1 min to 1 h. The higher the heat treatment temperature the less likely a long heat treatment would be preferable.

- 10 The coating or coatings obtained are typically cleaned in step f) and preferably cleaning is carried out ultrasonically.

Alternatively a preferred method for preparing a coating for improved soft tissue attachment according to the invention comprises the steps of

- a) preparing a simulated body fluid;
- 15 b) adding a dissolving Si-source and/or Ti-source to the simulated body fluid prepared in step a);
- c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with the mixture obtained in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said mixture;
- 20 d) letting dissolving  $\text{SiO}_2$ -based and/or  $\text{TiO}_2$ -based material form a coating as it is adsorbed and/or reprecipitated onto the surface of said material; and
- e) applying said surface wherein soft tissue attachment is desired.

A typical Si-source is bioactive glass or sol-gel derived  $\text{SiO}_2$ . The simulated body fluid of step a) is a solution that mimics the body fluid or a solution buffered to body fluid pH, i.e. pH 7.2–7.4.

A preferable simulated body fluid (SBF) is prepared by dissolving reagent chemicals of  $\text{NaCl}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

7

and  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  into deionised water. The fluid is buffered at physiological pH 7.40 at 37 °C with tris(hydroxymethyl)aminomethane and hydrochloric acid. The resulting liquid emulates the inorganic composition of the body fluid providing the ion concentrations as follows: 142.0 mM  $\text{Na}^+$ , 5.0 mM  $\text{K}^+$ , 1.5 mM  $\text{Mg}^{2+}$ , 2.5 mM  $\text{Ca}^{2+}$ ,  
 5 147.8 mM  $\text{Cl}^-$ , 4.2 mM  $\text{HCO}_3^-$ , 1.0 mM  $\text{HPO}_4^{2-}$  and 0.5 mM  $\text{SO}_4^{2-}$ .

The consistence of a simulated body fluid can slightly vary. It can e.g. comprise 1.0–1.5 mM of  $\text{Mg}^{2+}$ , 1.6–2.5 mM of  $\text{Ca}^{2+}$ , 103–147.8 mM of  $\text{Cl}^-$  and/or 4.2–27 mM of  $\text{HCO}_3^-$ .

The present invention further provides an implant wherein a surface or surfaces of  
 10 said implant intended to be attached to soft tissue are coated with a coating rich in  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$ . The coating is typically porous comprising pores with a diameter of less than 50 nm and preferably an essential part of the pores of the coating consists of pores having a diameter of 2 to 50 nm and a depth of at least 1 nm. The material of the implant to be coated typically is titanium, tantalum, zirconium,  
 15 nitinol, ceramic and polymer material or any combination thereof.

The coating of the implant is obtainable using a method comprising the steps of

- a) preparing a  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  or  $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$  sol;
- b) optionally aging said sol;
- c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with said sol which  
 20 sol has been prepared in step a) and aged in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said sol;
- d) withdrawing said surface from said sol at a predetermined speed to obtain a coated surface if said contacting of step c) has been carried out by dipping said surface into said sol;
- 25 e) optionally heat treating the coated surface for a predetermined time;
- f) optionally cleaning the coated surface;
- g) optionally drying the coated surface; and

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

8

h) repeating at least steps c) and d), but optionally also any of steps a) to g), a number of times to obtain the desired number of layers of coating if more than one layer of coating is desired.

Alternatively the coating is obtainable using a method comprising the steps of

- 5 a) preparing a simulated body fluid;
- b) adding a dissolving Si-source to the simulated body fluid prepared in step a);
- c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with the mixture obtained in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said mixture; and
- 10 d) letting the dissolving SiO<sub>2</sub>-based material form a coating as it is adsorbed and/or reprecipitated onto the surface of said material.

Other typical, preferred or most preferred features of the surface coating of the implant are the same as those defined above for the method if applicable for the surface coating of the implant.

- 15 The present invention additionally provides use of a surface coating rich in TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, or TiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub>, for the manufacture of an implant for soft tissue attachment to said coating. The coating is typically porous comprising pores with a diameter of less than 50 nm and preferably an essential part of the pores of the coating consist of pores having a diameter of 2 to 50 nm and a depth of at least 1 nm. The material
- 20 of the implant to be coated typically is titanium, nitinol, ceramic and polymer material or any combination thereof.

Other typical, preferred or most preferred features of the surface coating to be used are the same as defined above for the method and/or implant coating if applicable for the use.

- 25 The present invention thus relates to surface treatment of a material, e.g. metal, ceramic or polymer material, that permits soft tissue attachment via TiO<sub>2</sub> and/or

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

9

SiO<sub>2</sub> rich coatings. OH<sup>-</sup> groups of TiO<sub>2</sub> and/or SiO<sub>2</sub> coatings promote, e.g. by binding fibronectin glycoprotein, mammal connective tissue cell (fibroblasts) chemotaxis, migration, and adhesion on the material surfaces. In percutaneous devices this facilitates direct attachment of fibroblast-like cells on SiOH or TiOH coated surfaces preventing epithelial cells from proliferating between the soft tissue components and the implanted material. In subcutaneous devices soft tissues attach on the coated material surfaces without an intervening connective tissue capsule. Alternatively a coating or coatings can promote the attachment of epithelial layers of organs and endothelium and reepithelization of skin wounds. Coatings can be used to conduct nerve regeneration.

A sol-gel dip-coating method is one way to create uniform multi-layer bioactive coatings on the surface of the implants. By this method inorganic oxide ceramics can be prepared from colloidal and polymeric sols. It gives the flexibility to control different properties of the resulting ceramics, like composition, surface area, porosity, adsorption capacity, dissolution rate, etc. Different sol-gel-derived titania and silica coatings can be prepared by changing the composition and using different aging time for sols, changing heat-treatment temperature and number of coating layers. Furthermore, the surface properties (OH-groups, nanoscale topography and crystallinity) can be changed locally with the help of laser treatment.

The present invention also concerns the use of said coating methods in products intended for treatment of defects of soft tissue, e.g. maxilla, mandible, tooth, root canal, ear, nose, skull, joints, defects in bone and subcutaneous and intradermal soft tissue, e.g. of coatings of implants, external fixation pins, tissue guiding membranes, bone augmentation materials, canyals for penetrating skin, stents, vascular implants, valves and breast implants.

The present invention further concerns *in vitro* applications, such as the use of coatings according to the invention for coating surfaces used for soft tissue animal cell cultures or for coatings of tissue engineering devices.



WO 02/087648

PCT/FI02/00345

10

The present invention provides a biologically acceptable method, i.e. a sol-gel derived  $\text{TiO}_2$  or  $\text{SiO}_2$  coating, that can be made on material (e.g. on metal, polymer, ceramic) surface, which material is implanted into a mammal including humans. Preferably said materials are dipped into  $\text{TiO}_2$  or  $\text{SiO}_2$  sol. Different titania and silica coatings can be prepared by changing the composition and using different aging time for sols, changing heat-treatment temperature and number of coating layers.

A coating according to the invention can e.g. be prepared as follows (Peltola, Timo: Nanoscale Dimensions and *In Vitro* Calcium Phosphate Formation: Studies on Sol-gel-derived Materials and Bioactive Glass. Thesis, University of Turku, Turku, Finland, 2000):

Commercially pure (c.p.) Ti (grade 2) is used as a substrate material. Ti is ground with silicon carbide paper. Commercially available tetraisopropyl orthotitanate  $\text{Ti}((\text{CH}_3)_2\text{CHO})_4$  or tetraethylorthosilicate is dissolved in absolute ethanol (solution I). Ethyleneglycol monoethylether ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), deionised water, and fuming hydrochloric acid (HCl, 37%) or nitric acid is dissolved in ethanol (solution II). Solutions I and II are mixed and efficiently stirred. The ready-made sol is kept at 0 °C in order to slow down the condensation reaction. The sol is kept at 0 °C during the dip-coating process.

After 1 hour or 24 hours of aging, the coating is prepared by dipping the Ti substrate into the sol and then withdrawing it at the speed of 0.30 mm/s. The coated substrates are heat-treated (20–500 °C) for 10 min. After heat-treatment, coatings are cleaned ultrasonically in acetone for 5 min and in ethanol for another 5 min, and finally dried at ambient temperature. This dipping, heating and washing cycle is repeated as many times as needed, depending on the number of desired coating layers. Said sol can optionally contain one or more active or inactive agents such as drugs, mineralising or antimicrobial agents (e.g. bioactive glass, sol-gel derived ceramics), growth factors, preservatives, colouring, flow enhancing, bonding or suspension enhancing agents that will be derived into the final coating. The

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

11

concentration of the active agents within  $\text{TiO}_2$  and  $\text{SiO}_2$  sol remain homogenous during the dipping procedure.

Coatings can also be made biomimetically using an external Si and/or Ti-source e.g. as follows (Jokinen, Mika: Bioceramics by Sol-gel Method, Processing and Properties of Monoliths, Films and Fibers. Thesis, Åbo Akademi University, Turku, Finland, 1999):

Si-sources are in simulated body fluid conditions soluble  $\text{SiO}_2$ -based materials, such as bioactive glasses or sol-gel derived  $\text{SiO}_2$ . A substrate, such as a Ti-implant or a polymer, is put into a solution containing the Si-source, where the dissolving  $\text{SiO}_2$ -based material forms a coating as it is adsorbed and/or reprecipitated onto the substrate surface. The solution is preferably a solution that mimics body fluid, such as SBF or to body fluid pH buffered (pH 7.2–7.4) solutions. The formed coating is able to nucleate hydroxyapatite directly from the same solution as long as the solution contains calcium and phosphate ions (as is the case when using SBF). If the coated substrate has been prepared in buffered solutions (pH 7.2–7.4) that do not contain calcium and phosphate ions or if one desires to enhance the hydroxyapatite formation, the coated substrate can be further moved into another liquid, which contains calcium phosphate ions [such as 1.0–2.0 x SBF (ion concentrations multiplied with the coefficient)]. Alternatively, the coatings can be produced on precisely determined areas of the medical devices using laser technique.

$\text{CO}_2$  laser operates in the infrared part of the spectra at 10.6  $\mu\text{m}$ . Radiation is absorbed by sol-gel-derived titania or silica gels. The substrate is only heated locally and the coating can be processed selectively, which allows different areas of the same coating to have different properties. It is possible to control the degree of densification of sol-gel-derived coatings by choosing adequate processing parameters like laser power, laser beam transition speed and the size of the spot of the focused laser beam.

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

12

By using a computer-controlled motion stage during processing it is possible to produce patterned coatings on medical implants, to coat only certain areas of an implant, as required by some clinical applications. 1 mm thick sheet of c.p. Ti (grade 2) is often used as substrate material. Ti substrate plates are dipped into the sol. Each layer is first heat-treated in a furnace, and thereafter further locally treated with CO<sub>2</sub>-laser (two 3 mm lanes). Power ranges that can be used are 12–20 W. Distance between two neighboring laser scan lines can be kept at 100 µm. Motion speed can be 2.5 mm/s.

Alternatively SiO<sub>2</sub> ceramics can be mixed into polymeric materials that in aqueous environment form Si rich surfaces on the composite materials that function comparably to the coatings described above.

The coatings can be applied on biomaterials used in reconstruction or augmentation of soft tissue structures in a patient in need thereof comprising inserting the coated material into tissue defects or implanting it to cover the anatomic structure in question. The coated materials can either be resorbable or non-resorbable.

Anatomic structures treatable according to the method of this invention include, but are not limited to, maxilla, mandible, tooth, root of a tooth, defects in bone, ear, nose, skull, joints, subcutaneous, percutaneous and intradermal soft tissues or dermal soft tissue.

Preferred TiO<sub>2</sub> and SiO<sub>2</sub> coatings in the present invention were selected on the basis that: (a) sol-gel coatings can be made in thin layers which makes it possible to coat small devices; (b) bioactive components, e.g. drugs, growth factors, can be added in the coatings; (c) coatings can be applied on porous surfaces and structures.

The following examples are offered as illustrations of the present invention and are not to be constructed as limitations thereof.

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

13

**Example 1**

TiO<sub>2</sub> coatings are made on percutaneous dental implant abutments as described above. After a sufficient healing period submerged implants are exposed, their cover screws are removed and TiO<sub>2</sub> coated Ti abutments are connected to the osseointegrated implants. During soft tissue wound healing connective tissue components attach directly on the coated Ti surface thus preventing the formation of epithelial lining between the implant and surrounding soft tissue components.

**Example 2**

Like example 1 but the coating is applied on the upper portion of a one-stage implant that will be connected directly in the oral cavity without submerging period.

**Example 3**

Like in example 1 but the coating is applied on a fixation pin used for external fracture fixation.

**Example 4**

Like in example 1 but the coating is applied on a percutaneous plastic stent.

**Example 5**

Like examples 1 to 4 but SiO<sub>2</sub> or TiO<sub>2</sub> coating is applied on the subgingival portion of a polymer, ceramic or metallic crown of a tooth.

**Example 6**

Like examples 1 to 4 except that the coating is applied on a vascular stent.

WO 02/087648

PCT/F102/00345

14

**Example 7**

Like examples 1 to 4 except that the coating is applied on a heart valve implant material.

**Example 8**

- 5 Like examples 1 to 4 except that the coating is applied on breast implant material.

**Example 9**

Like examples 1 to 4 but the coatings will be treated with CO<sub>2</sub> laser in order to create tailor made bioactive zones on coated material surfaces

**Example 10**

- 10 SiO<sub>2</sub> coating is produced on a material surface by immersing the substrate in SBF solution in presence of an external Si ion containing ceramic material such as bioactive glass granules.

- 15 It will be appreciated that the present invention can be incorporated in the form of a variety of embodiments, only a few of which are disclosed herein. It will be apparent for the specialist in the field that other embodiments exist and do not depart from the spirit of the invention. Thus, the described embodiments are illustrative and should not be construed as restrictive.

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

15

## CLAIMS

1. A method for improving soft tissue attachment comprising the steps of
  - coating a surface of a material, to which surface soft tissue is to be attached, with a coating rich in  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$ , and
  - 5 - applying said coating wherein soft tissue attachment is desired.
2. The method according to claim 1 characterized in that said coating is porous.
3. The method according to claim 2 characterized in that said coating comprises pores with a diameter and/or depth of less than 50 nm.
4. The method according to claim 3 characterized in that an essential part of the  
10 pores of the coating consist of pores having a diameter of 2 to 50 nm and a depth of at least 1 nm.
5. The method according to any of claims 1 to 4 characterized in that the material to be coated is selected from the group consisting of titanium, nitinol, ceramic and polymer material and any combination thereof.
- 15 6. The method according to claim 1 or 5 characterized in that said coating is applied for *in vitro* attachment of soft tissue.
7. The method according to claim 1 or 5 characterized in that said coating is applied for *in vivo* attachment of soft tissue.
8. The method according to any of claims 1 to 7 characterized in that it  
20 comprises the steps of
  - a) preparing a  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  or  $\text{TiO}_2$ - $\text{SiO}_2$  sol;
  - b) aging said sol;

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/FI02/A0345

16

- c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with said sol which sol has been prepared in step a) and aged in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said sol;
- d) withdrawing said surface from said sol at a predetermined speed to obtain a coated surface if said contacting of step c) has been carried out by dipping said surface into said sol;
- 5 e) optionally heat treating the coated surface for a predetermined time;
- f) optionally cleaning the coated surface;
- g) optionally drying the coated surface;
- 10 h) repeating at least steps c) and d), but optionally also any of steps a) to g), a number of times to obtain the desired number of layers of coating if more than one layer of coating is desired; and
- j) applying said surface where soft tissue attachment is desired.
9. The method of claim 8 characterized in that the sol is selected from the group consisting of  $\text{TiO}_2$  sol,  $\text{SiO}_2$  sol and  $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$  sol.
- 15
10. The method of claim 8 characterized in that the preparation of the sol comprises the steps of
- i) dissolving tetraisopropyl orthotitanate  $\text{Ti}((\text{CH}_3)_2\text{CHO})_4$  and/or tetraethylorthosilicate in ethanol,
- 20 ii) dissolving ethyleneglycol monoethylether ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), deionised water, and hydrochloric acid or nitric acid in ethanol,
- iii) mixing solutions obtained in step i) and ii) and optionally stirring said mixture efficiently.
11. The method of any of claims 8 to 10 characterized in that the sol is at a chilled temperature of  $-10$  to  $+20$  °C, preferably  $-5$  to  $+5$  °C, most preferably  $-2$  to  $+2$  °C during step c).
- 25

WO 02/087648

PCT/F102/00345

17

12. The method of any of claims 8 to 11 characterized in that the sol prepared in step a) is aged in step b) for 1 min to 10 days, preferably for 1 to 48 hours.
13. The method of any of claims 8 to 12 characterized in that the surface is contacted with the sol by dipping it into the sol in step c) and withdrawn in step d) from the sol at a speed of 0.01 mm/s to 10 mm/s, preferably at a speed of 0.1 mm/s to 1.0 mm/s.
14. The method of any of claims 8 to 13 characterized in that the surface is heat treated in step e) at a temperature of 20 to 630 °C, preferably at a temperature of 30 to 45 °C, 90 to 160 °C or 250 to 630 °C.
- 15 15. The method of any of claims 8 to 14 characterized in that the heat treatment in step e) is carried out for 0.1 s to 10 d, preferably 1 s to 10 h, most preferably 1 min to 1 h.
16. The method of any of claims 8 to 15 characterized in that the coating or coatings are ultrasonically cleaned in step f).
- 15 17. The method according to any of claims 1 to 7 characterized in that it comprises the steps of
- a) preparing a simulated body fluid;
  - b) adding a dissolving Si-source and/or Ti-source to the simulated body fluid prepared in step a);
  - 20 c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with the mixture obtained in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said mixture;
  - d) letting dissolving SiO<sub>2</sub>-based and/or TiO<sub>2</sub>-based material form a coating as it is adsorbed and/or reprecipitated onto the surface of said material; and
  - 25 e) applying said surface wherein soft tissue attachment is desired.

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)



WO 02/087648

PCT/F102/00345

18

18. The method of claim 17 characterized in that the Si-source is bioactive glass or sol-gel derived  $\text{SiO}_2$ .
19. The method of claim 17 or 18 characterized in that the simulated body fluid of step a) is a solution that mimics the body fluid or a solution buffered to body fluid pH, i.e. pH 7.2-7.4.
20. The method of any of claims 17 to 19 characterized in that the simulated body fluid is SBF comprising 1.0-1.5 mM of  $\text{Mg}^{2+}$ , 1.6-2.5 mM of  $\text{Ca}^{2+}$ , 103-147.8 mM of  $\text{Cl}^-$  and 4.2-27 mM  $\text{HCO}_3^-$ .
21. An implant wherein a surface or surfaces of said implant intended to be attached to soft tissue are coated with a coating rich in  $\text{TiO}_2$  and/or  $\text{SiO}_2$  characterized in that said coating is porous.
22. The implant according to claim 21 characterized in that said coating comprises pores with a diameter of less than 50 nm.
23. The implant according to claim 22 characterized in that an essential part of the pores of the coating consist of pores having a diameter of 2 to 50 nm and a depth of at least 1 nm.
24. The implant according to any of claims 21 to 23 characterized in that said coating is obtainable using a method comprising the steps of
- preparing a  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  or  $\text{TiO}_2$ - $\text{SiO}_2$  sol;
  - optionally aging said sol;
  - contacting a surface to which soft tissue is to be attached with said sol which sol has been prepared in step a) and aged in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said sol;

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/FI02/06345

19

- d) withdrawing said surface from said sol at a predetermined speed to obtain a coated surface if said contacting of step c) has been carried out by dipping said surface into said sol;
- e) optionally heat treating the coated surface for a predetermined time;
- 5 f) optionally cleaning the coated surface;
- g) optionally drying the coated surface; and
- h) repeating at least steps c) and d), but optionally also any of steps a) to g), a number of times to obtain the desired number of layers of coating if more than one layer of coating is desired.
- 10 25. The implant according to any of claims 21 to 23 characterized in that said coating is obtainable using a method comprising the steps of
- a) preparing a simulated body fluid;
- b) adding a dissolving Si-source to the simulated body fluid prepared in step a);
- c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with the mixture
- 15 obtained in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said mixture; and
- d) letting the dissolving  $\text{SiO}_2$ -based material form a coating as it is adsorbed and/or reprecipitated onto the surface of said material.
26. Use of a porous surface coating rich in  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ , or  $\text{TiO}_2$  and  $\text{SiO}_2$ , for the
- 20 manufacture of an implant for soft tissue attachment to said coating.
27. The use according to claim 26 characterized in that said coating comprises pores with a diameter of less than 50 nm.
28. The use according to claim 27 characterized in that an essential part of the pores of the coating consist of pores having a diameter of 2 to 50 nm and a depth of
- 25 at least 1 nm.

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

20

29. The use according to any of claims 26 to 28 characterized in that the material of the implant to be coated is selected from the group consisting of titanium, nitinol, ceramic and polymer material and any combination thereof.

30. The use according to any of claims 26 to 29, characterized in that said coating is obtainable by a method comprising the steps of

- a) preparing a  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  or  $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$  sol;
- b) optionally aging said sol;
- c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with said sol which sol has been prepared in step a) and aged in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said sol;
- d) withdrawing said surface from said sol at a predetermined speed to obtain a coated surface if said contacting of step c) has been carried out by dipping said surface into said sol;
- e) optionally heat treating the coated surface for a predetermined time;
- f) optionally cleaning the coated surface;
- g) optionally drying the coated surface; and
- h) repeating at least steps c) and d), but optionally also any of steps a) to g), a number of times to obtain the desired number of layers of coating if more than one layer of coating is desired;

for the manufacture of an implant for soft tissue attachment to said coating.

31. The use of claim 30 characterized in that the sol is selected from the group consisting of  $\text{TiO}_2$  sol,  $\text{SiO}_2$  sol and  $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$  sol.

32. The use according to claim 30 or 31 characterized in that the preparation of the sol comprises the steps of

- i) dissolving tetraisopropyl orthotitanate  $\text{Ti}((\text{CH}_3)_2\text{CHO})_4$  and/or tetraethylorthosilicate in ethanol,

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/F102/00345

21

- ii) dissolving ethyleneglycol monoethylether ( $C_2H_5OCH_2CH_2OH$ ), deionised water, and hydrochloric acid or nitric acid in ethanol,
- iii) mixing solutions obtained in step i) and ii) and optionally stirring said mixture efficiently,
- 5 33. The use according to any of claims 26 to 32 characterized in that the sol is at a chilled temperature of  $-10$  to  $+20$  °C, preferably  $-5$  to  $+5$  °C, most preferably  $-2$  to  $+2$  °C during step c).
34. The use according to any of claims 26 to 33 characterized in that the sol prepared in step a) is aged in step b) for 1 min to 10 days, preferably for 1 hour to 10 48 hours.
35. The use according to any of claims 26 to 34 characterized in that the surface is contacted with the sol by dipping it into the sol in step c) and withdrawn in step d) from the sol at a speed of 0.01 mm/s to 10 mm/s, preferably at a speed of 0.1 mm/s to 1.0 mm/s.
- 15 36. The use according to any of claims 26 to 35 characterized in that the surface is heat treated in step e) at a temperature of 20 to 630 °C, preferably at a temperature of 30 to 45 °C, 90 to 160 °C or 250 to 630 °C.
37. The use according to any of claims 26 to 36 characterized in that the heat treatment in step e) is carried out for 0.1 s to 10 d, preferably 1 s to 10 h, most 20 preferably 1 min to 1 h.
38. The use according to any of claims 26 to 37 characterized in that the coating or coatings are ultrasonically cleaned in step f).
39. The use of a surface coating according to any of claim 26 to 29, characterized in that said coating is obtainable by a method comprising the steps of

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

22

- a) preparing a simulated body fluid;
- b) adding a dissolving Si-source and/or Ti-source to the simulated body fluid prepared in step a);
- 5 c) contacting a surface to which soft tissue is to be attached with the mixture obtained in step b) wherein said contacting is optionally carried out by dipping said surface into said mixture; and
- d) letting the dissolving  $\text{SiO}_2$ -based and/or  $\text{TiO}_2$ -based material form a coating as it is adsorbed and/or reprecipitated onto the surface of said material.
- 10 for the manufacture of an implant for soft tissue attachment to said coating.
40. The use according to claim 39 characterized in that the Si-source is bioactive glass or sol-gel derived  $\text{SiO}_2$ .
41. The use according to claim 39 or 40 characterized in that the simulated body fluid of step a) is a solution that mimics the body fluid or a solution buffered to
- 15 body fluid pH, i.e. pH 7.2–7.4.
42. The use according to any of claims 39 to 41 characterized in that the simulated body fluid is SBF comprising 1.0–1.5 mM of  $\text{Mg}^{2+}$ , 1.6–2.5 mM of  $\text{Ca}^{2+}$ , 103–147.8 mM of  $\text{Cl}^-$  and 4.2–27 mM  $\text{HCO}_3^-$ .

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

1/4

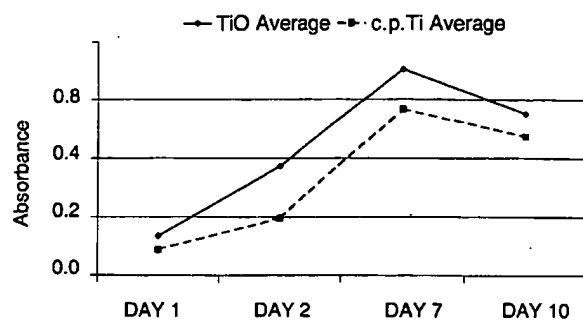


Figure 1



Figure 2

WO 02/087648

PCT/FI02/00345

2/4

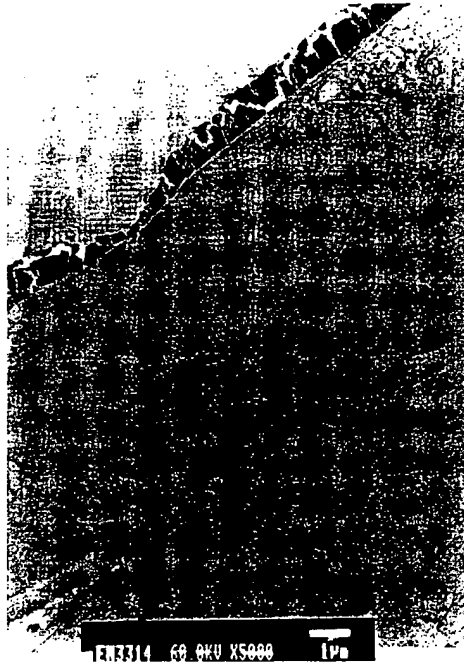
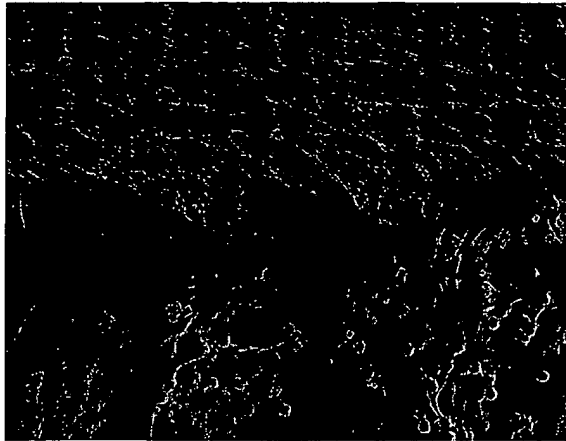


Figure 3

WO 02/087648

PCT/F02/00345

3/4



**Figure 4**



WO 02/087648

PCT/F102/00345

4/4

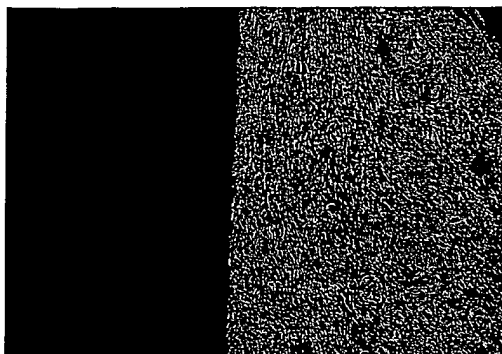


Figure 5a

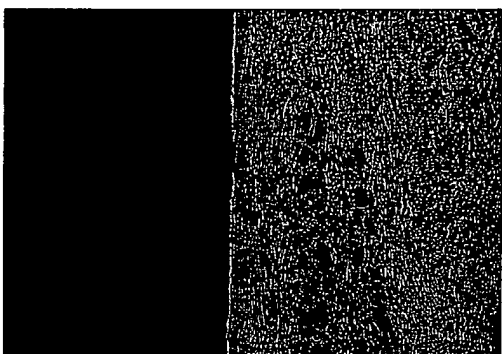


Figure 5b

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/FI 02/00345
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC7: A61L 27/30 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC7: A61L		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
SE,DK,FI,NO classes as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WD 0072777 A1 (NOBEL BIOCARE AB), 7 December 2000 (07.12.00), abstract, claims --	1-7,21-23, 26-29
X	US 6054400 A (MARIA BRINK ET AL), 25 April 2000 (25.04.00), abstract, claims --	1-7,21-23, 26-29
X	US 4871366 A (ANDREAS F. VON RECUM ET AL), 3 October 1989 (03.10.89), abstract, claims	1
A	--	2-42
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered with one or more other such documents, each contribution being obvious to a person skilled in the art "Z" document mentioned in the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
30 August 2002		03 -09- 2002
Name and mailing address of the ISA/ Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. + 46 8 666 02 86		Authorized officer Hélène Erikson/Els Telephone No. + 46 8 782 25 00

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/FI 02/00345

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 3516411 A1 (PLASMAINVENT AG), 13 November 1986 (13.11.86), abstract, claims	1
A	---	2-42
A	US 5480438 A (YUUSUKE ARIMA ET AL), 2 January 1996 (02.01.96), abstract, claims	1-42
A	US 5477864 A (JAMES A. DAVIDSON), 26 December 1995 (26.12.95), abstract, claims	1-42
A	EP 0401793 A1 (TDK CORPORATION), 12 December 1990 (12.12.90), abstract, claims	1-42
	-----	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

06/07/02

International application No.

PCT/FI 02/00345

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WD 0072777 A1	07/12/00	AU 5260900 A EP 1055096 A EP 1196110 A IL 137908 D SE 514323 C SE 9901971 A US 6415715 B	18/12/00 29/11/00 17/04/02 00/00/00 12/02/01 01/12/00 09/07/02
US 6054400 A	25/04/00	AT 205815 T AU 687658 B AU 4348596 A CA 2210070 A CZ 288646 B CZ 9702101 A DE 69615337 D,T EP 0802890 A,B SE 0802890 T3 ES 2164230 T FI 2221 U FI 101129 B FI 950147 A,V HU 9801232 A JP 10512227 T PL 321182 A WD 9621628 A	15/10/01 26/02/98 31/07/96 18/07/96 15/08/01 17/12/97 04/07/02 29/10/97 16/02/02 18/12/95 00/00/00 14/07/96 28/08/98 24/11/98 24/11/97 18/07/96
US 4871366 A	03/10/89	US 4846834 A	11/07/89
DE 3516411 A1	13/11/86	AT 55236 T DE 3673335 D EP 0222853 A,B SE 0222853 T3 JP 7002180 B JP 62503011 T WD 8606617 A	15/08/90 00/00/00 27/05/87 18/01/95 03/12/87 20/11/86
US 5480438 A	02/01/96	DE 4332082 A,C JP 6105900 A	07/04/94 19/04/94

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
Information on patent family members

06/07/02

International application No.  
PCT/FI 02/00345

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5477864 A	26/12/95	AU 5219693 A	16/06/94
		CA 2110779 A	08/06/94
		EP 0601804 A	15/06/94
		JP 6233811 A	23/08/94
		US 5562730 A	08/10/96
		US 5674280 A	07/10/97
		US 5676632 A	14/10/97
		US 5683442 A	04/11/97
		US 5685306 A	11/11/97
		US 5690670 A	25/11/97
		US 5713947 A	03/02/98
		US 5716400 A	10/02/98
		US 5782910 A	21/07/98
		US 5509933 A	23/04/96
		US 5545227 A	13/08/96
		US 5573401 A	12/11/96
		US 5169597 A	08/12/92
		AT 104865 T	15/05/94
		AU 644393 B	09/12/93
		AU 6827490 A	27/06/91
		CA 2032875 A	22/06/91
		DE 69008507 D,T	18/08/94
		DK 437079 T	30/05/94
		EP 0437079 A,B	17/07/91
		SE 0437079 T3	
		ES 2053126 T	16/07/94
		JP 6073475 A	15/03/94
		ZA 9010217 A	30/10/91
EP 0401793 A1	12/12/90	DE 69022776 D,T	30/05/96
		US 5344456 A	06/09/94
		US 5356436 A	18/10/94
		JP 4028374 A	30/01/92
		JP 2898331 B	31/05/99
		JP 3090152 A	16/04/91

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

- (72)発明者 ネルヒ、チモ  
フィンランド共和国、フィン-00340 ヘルシンキ、ピュヘン ラウリン チエ 5 ペー
- (72)発明者 パルダン、ハンヌ  
フィンランド共和国、フィン-00170 ヘルシンキ、リーサンカツ 18 デー 76
- (72)発明者 ユリーウルポ、アンチ  
フィンランド共和国、フィン-20660 リットイネン、ベルッチネカツ 17
- (72)発明者 ペルトラ、チモ  
フィンランド共和国、フィン-20740 ツルク、ヤーッキマンカツ 5 デー
- (72)発明者 ヨキネン、ミカ  
フィンランド共和国、フィン-20540 ツルク、ミエリキンカツ 5
- (72)発明者 ハッポネン、リストーベッカ  
フィンランド共和国、フィン-21200 ライシオ、インナンカツ 25
- Fターム(参考) 4C081 AB11 BA12 BA13 CF132 CF142 DA01 DB03 DC03 EA06  
4C097 AA20 AA21 AA23 BB05 CC06 DD06 DD09 DD10 DD15 EE13  
4C167 AA50 BB05 BB06 CC04 GG26 GG42